

bacterial homoserine-lactone derivs. prepn. - by reacting homoserine lactone a fatty acid  
Patent Assignee: MITSUBISHI GAS CHEM CO INC

**Patent Family**

Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Week	Type
JP 60045568	A	19850312	JP 83153621	A	19830823	198516	B

**Priority Applications (Number Kind Date):** JP 83153621 A ( 19830823)

**Patent Details**

Patent	Kind	Language	Page	Main IPC	Filing Notes
JP 60045568	A		6		

**Abstract:**

JP 60045568 A

In the prepn. of homoserine-lactone derivs. of formula (I); (where R-C(O)- is a fatty acid residue), homoserine-lactone is reacted with a fatty acid. Pref. homoserine-lactone is of formula (II), and is obtd. from Methanomonas, Thiobacillus, Protaminobacter, Paracoccus or Pseudomonas bacteria.

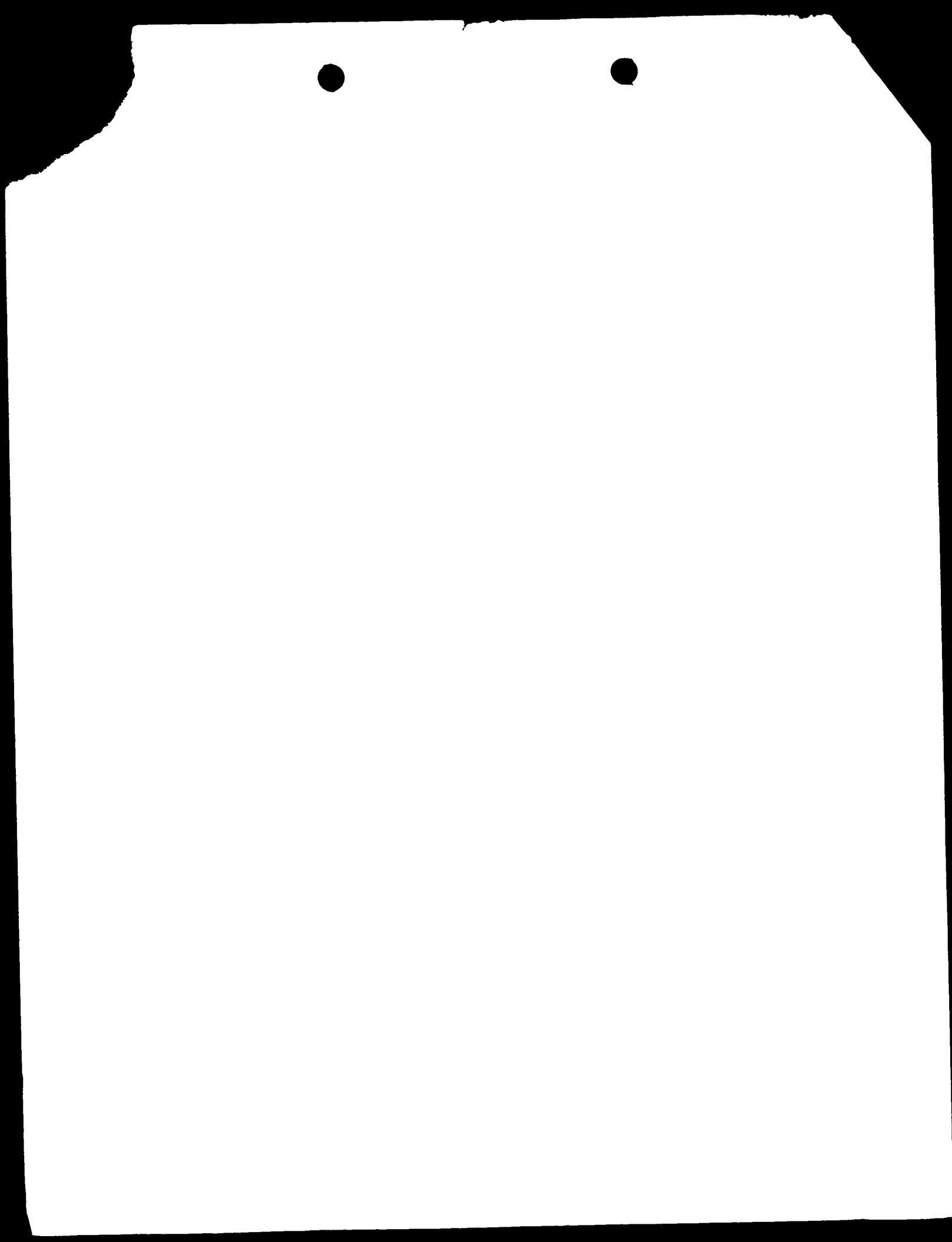
**USE/ADVANTAGE** - The process gives the derivs. (I) having antibacterial activity, e.g. against Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, etc.

0/0

Derwent World Patents Index

© 2001 Derwent Information Ltd. All rights reserved.

Dialog® File Number 351 Accession Number 4269788



⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-45568

⑬ Int.Cl.<sup>1</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和60年(1985)3月12日

C 07 D 307/32

6640-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑮ 発明の名称 ホモセリンラクトン誘導体の製造法

⑯ 特 願 昭58-153621

⑰ 出 願 昭58(1983)8月23日

⑱ 発 明 者 梶 山 士 郎 新潟市太夫浜字新割182番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟  
研究所内⑲ 発 明 者 田 原 寅 一 新潟市太夫浜字新割182番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟  
研究所内⑲ 発 明 者 玉 野 明 新潟市太夫浜字新割182番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟  
研究所内

⑳ 出 願 人 三菱瓦斯化学株式会社 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号

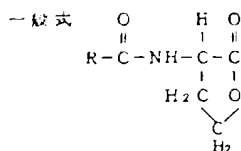
## 明 細 書

## 1 発明の名称

ホモセリンラクトン誘導体の製造法

## 2 特許請求の範囲

ホモセリンラクトンと脂肪酸とを反応させて、



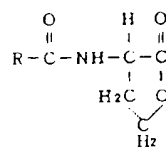
〔たゞし、式中  $\text{R}-\text{C}-$  は反応原料として使  
用された脂肪酸に由来する脂肪酸残基〕

で示されるホモセリンラクトン誘導体の製造法

## 3 発明の詳細な説明

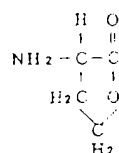
本発明はホモセリンラクトン誘導体の製造法  
に関する。ホモセリンラクトン誘導体の一種の存在は知  
られてはいるが、その製造法は知られていない。

本発明者は、ホモセリンラクトン誘導体に

ついて鋭意研鑽を重ねた結果、特異的な生理  
活性を有するホモセリンラクトン誘導体の製  
造法を発見し、本発明の方法に到達した。すなわち、本発明は、ホモセリンラクトン  
と脂肪酸とを反応させて一般式

〔たゞし、 $\text{R}-\text{C}-$  は反応原料として使用された  
脂肪酸の酸に由来する脂肪酸残基〕  
で示されるホモセリンラクトン誘導体の製造  
法である。

ホモセリンラクトンは



で示される化合物であつて、2-アミノ-4-ブタノリドとも称されている。このホモセリンラクトンはたとえば一般にメタノール質化性微生物のような微生物の菌体に含有されている。メタノール質化性微生物には特に制限はないが、通常はたとえばメタノモナス属、チオバチルス属、プロタミノバクター属、パラコッカス属およびシュードモナス属のそれぞれに属するメタノール質化性細菌が使用される。このメタノール質化性細菌の代表例として、たとえばメタノモナス メチロボラ (Methanomonas methylovora) ATCC 21369、チオバチルス ノベルス (Thiobacillus novellus) ATCC 8093、プロタミノバクター ルバー (Protaminobacter ruber) IFO 3708、パラコッカス デニトリファイカンス (Paracoccus denitrificans) IFO 13301 およびシュードモナス メタノリカ (Pseudomonas methenolica) ATCC 21704 などがある。なお、上記において“ATCC”は“American Type Culture Collection”を示し、また“IFO”は“Institute for

Fermentation, Osaka List of culture”を示す。

これらのメタノール質化性細菌は、メタノール単独またはメタノールとたとえば触媒のような他の炭素源とを炭素源として含有する培地を使用して常法により培養される。

またメタノール質化性微生物菌体からのホモセリンラクトンの抽出は、これらの菌体を破砕しまたは破砕することなしに、たとえば、メタノール、エタノール、イソプロパノールおよびブタノールなどの低級アルコール、アセトン、ベンゼンならびにトルエンなどの有機溶媒を抽出剤として行なわれる。

また、合成法または半合成法で得られたホモセリンラクトンも使用することができる。

本発明で使用される脂肪酸としてR-COOHで示される脂肪酸が使用され、飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸のいずれをも使用しうる。飽和脂肪酸としては、たとえばR-COOH においてRは $C_nH_{2n+1}$  (たゞし、nは3乃至29の整

数)の化合物であつて、その具体例としては酪酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ペヘニン酸、リグノセリン酸、セロチン酸、モンタン酸、メリシン酸等がある。また、不飽和脂肪酸としては、たとえばR-COOH においてRは $C_nH_{2n-2m+1}$  (たゞし、nは13乃至19の整数、mは2重結合の数であつて1乃至4の整数)の化合物であつてその具体例としては、ミリストオレイン酸、パルミトオレイン酸、オレイン酸、パクセン酸、エイコセン酸、エルシン酸、セラコレン酸、リノール酸、ヒラゴン酸、リノレン酸およびアラキドン酸等がある。

微生物菌体から抽出されたホモセリンラクトンは通常は脂質を同伴しているので、この脂質は反応に先立つて除去されなければならないが、通常はこのホモセリンラクトンをヘキサンとエーテルで逐次洗浄した後、たとえば2N NaOH水溶液で加水分解し冷却後不純物を尹過しホモ

セリンラクトン水溶液を得る。このホモセリンラクトンを酸で中和し、または中和することなしに反応に供する。

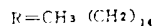
本発明の反応において水が副生するが、この副生水を除去しつつ反応を進めなければならない。そのためには水と共沸しうる溶剤たとえばクロロホルムまたは酢酸エチルを加えて共沸温度で反応をすゝめる。なお、本発明での反応自体は常温乃至室温でも進行する。前記の共沸溶剤のうち水に対する溶解度が小さいものが好ましい。共沸溶剤の使用量は少くとも副生水を共沸物として除去するに必要な量であり、一方、反応物中の水の全量を共沸物として除去するに必要な量より多くしてもよい。

脂肪酸の使用量には特に制限はないが、通常はホモセリンラクトン誘導体1モルあたり1モル以上が好ましく1~3モルが特に好ましい。

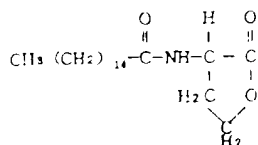
このようにして得られた反応生成物に、水および共沸溶媒が含まれる場合には、反応生成物からこの水および共沸溶媒を除去し、得られた

型ホモセリンラクトン誘導体をたとえばメタノールから再結晶してホモセリンラクトンが得られる。

本発明で得られる代表的なホモセリンラクトン誘導体の理化学的性状はつぎの通りである。



構造式：N-hexadecanoyl-homoserinelactone)



1) 元素分析値(%)	$\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{NO}_3$
計算値	C 70.80 H 10.91
	N 4.13 O 14.16
実測値	C 70.86 H 11.06
	N 4.09 O 13.65

2) 分子量	339 (質量スペクトルによる)
--------	------------------

3) 融点	137-138℃
-------	----------

4) 紫外線吸収スペクトル	$\lambda_{\text{CH}_3\text{OH max}}$ 205mμ ( $\epsilon=58.00$ )
---------------	---

5) 赤外線吸収スペクトル(KBr法による)	第1図
------------------------	-----

6) 核磁気共鳴吸収スペクトル	第2図 $^{13}\text{C}$ NMRスペクトル
-----------------	------------------------------

第3図 $^1\text{H}$ NMRスペクトル	第2図では 5000 Hz
第3図では 900 Hz	

7) 溶解度	メタノール、エタノール、イソプロパノール、ブタノール、ベンゼン、トルエン、アセトン、クロロホルムに可溶。 エーテル、ヘキサンには難溶、水には不溶。
8) 結晶の色および性状	白色針状結晶(アセトンから再結晶したもの)

の)

本発明により、有用な化合物であるホモセリンラクトン誘導体が容易に得られるようになった。また本発明のホモセリンラクトン誘導体は、一般に特異な生型活性を有し、農薬または医薬として使用しうる可能性がある。

#### 実施例

純水1ℓあたり  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3g、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.4g、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2.1g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2g、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  30mg、 $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{XH}_2\text{O}$  30mg、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  5mg、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  5mg、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.5g およびビタミン混合液1mlを溶解し、pHが6.5に調整された液5ℓを10ℓ容培養槽に入れ、120℃で20分間殺菌した後、メタノール50gを無菌的に添加し、これを培地とした。

なお上記のビタミン混合液の組成は

ビオチン	20μg
パントテン酸カルシウム	4mg

葉酸	20μg
イノシトール	20mg
ニコチン酸	4mg
ピリドキシン塩酸塩	4mg
チアミン塩酸塩	4mg
p-アミノ安息香酸	2mg
リボフラビン	2mg
純水	1000ml

である。

これに前記と同様な培地を用いて30℃で48時間前培養されたパラコッカス デニトリフィカンス(IFO 13301)の菌体を含む前培養液1.5容量分接種し、培養期間中の培養液のpHが6.5に維持されるようにアンモニア水を補給しながら培養温度30℃、攪拌回転数700rpm、通気量1vvmで通気攪拌培養を行なった。12時間の増殖誘導期間の後、対象増殖期となり対数増殖期では世代時間3.5時間で増殖し、培養開始48時間後に培養液のメタノール濃度は0.001wt%以下となつ

た。この培養液を遠心分離して菌体を分離回収し、この菌体を100℃で10時間乾燥して培養液1ℓあたり2.8gの乾燥菌体を得た。

この菌体14gにアセトン200mlを加え、50℃、5時間攪拌下で抽出し、フィルターにて除菌後、ホモセリンラクトンを含む抽出液を得た。次に抽出液を-20℃、20時間冷却し、析出したホモセリンラクトンを含む油状物質をろ取し、ヘキサン100mlとエーテル100mlとで逐次洗浄後、白色粉末を得た。

温度計、冷却管を備えた400ml三口フラスコに、この白色粉末および2N NaOH水溶液100mlを加え90℃1時間加熱した。冷却後不純物をろ取し、ホモセリンラクトン2.1gを含む水溶液を得た。

ホモセリンラクトンを含む水溶液をHClでpH 7.0に中和後、温度計、分液ロートと接続した冷却管を備えた400ml三口フラスコにうつし、クロロホルム100ml、パルミチン酸5gを加え、水-クロロホルムの共沸温度

56.1℃で2時間加熱保持した。

なお、加熱中蒸留分は冷却され、クロロホルムは分液ロートで水とわけフラスコ内にもどし、水は系外に取り出した。

最後に、ホモセリンラクトン誘導体を含むクロロホルム溶液を濃縮乾燥し、メタノールより再結晶して白色針状結晶品ホモセリンラクトン誘導体7gを得た。

この物質はつぎの性質を示した。

元素分析値  $C_{20}H_{37}NO_3$   
 C 70.86 H 11.06  
 N 4.09 O 13.65  
 分子量 339 (質量スペクトルによる)  
 融点 137~138℃

紫外線吸収スペクトル

$\lambda_{CH_3OH}^{max}$  205mμ ( $\epsilon=58.00$ )

赤外線吸収スペクトル (KBr法)

第1図と一致した。

核磁気共鳴スペクトル

第2図および第3図のそれぞれと一致した。

次に本発明化合物の抗菌作用を明らかにする試験例を示す。

#### 試験例

寒天拡散法により各種試験菌に対する最小生育阻止濃度(MIC)を測定し、第1表の結果を得た。

尚、表中の化合物Noは、次の通りであつた。

#### 化合物No 1

$R=CH_3(CH_2)_{12}$

分子式  $C_{18}H_{33}NO_3$

N-tetradecanoyl-homoserinelactone

白色、mp 118~119℃

#### 化合物No 2

$R=CH_3(CH_2)_{14}$

分子式  $C_{20}H_{37}NO_3$

N-hexadecanoyl-homoserinelactone

白色、mp 137~138℃

#### 化合物No 3

$R=CH_3(CH_2)_{16}$

分子式  $C_{22}H_{39}NO_3$

N-octadecanoyl-homoserinelactone

白色、mp 154~155℃

#### 化合物No 4

$R=CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7$  cis体

分子式  $C_{22}H_{39}NO_3$

N-cis-9-octadecenoyl-homoserinelactone

無色、mp 34~35℃

#### 化合物No 5

$R=CH_3(CH_2)_9CH=CH(CH_2)_5$  trans体

分子式  $C_{22}H_{39}NO_3$

N-trans-7-octadecenoyl-homoserinelactone

無色、mp 96~97℃

#### 化合物No 6

$R=CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7$  cis体

分子式  $C_{22}H_{37}NO_3$

N-cis-9, cis12-octadecadecadienoyl-homoserinelactone

無色、mp 18~19℃

表 1 次

菌 名	IFO 番号	病原性など	増殖地	化 合 物					
				化合物 1	化合物 2	化合物 3	化合物 4	化合物 5	化合物 6
1 Staphylococcus aureus スタフィロコッカス・アウルス	12732	黄色ブドウ球菌	A	5.25	6.25	6.25	12.5	6.25	0.78
2 Bacillus subtilis バシラス・スブチリス	3513	枯草菌	A	3.13	3.13	3.13	12.5	12.5	3.13
3 E. coli エシェリヒア・コリ	3301	大腸菌	A	25	50	50	0.78	0.78	0.78
4 Xanthomonas oryzae キサントモナス・オリザ	3312	イネ白葉枯病菌	C	12.5	12.5	12.5	6.25	0.78	0.78
5 Xanthomonas citri キサントモナス・シトリ	3781	柑橘細菌性病害菌	C	12.5	12.5	12.5	25	12.5	25
6 Erwinia carotovora エルヴィニア・カロトボラ	3830	モモ軟腐病原菌	C	12.5	12.5	12.5	25	12.5	25
7 Mycobacterium phlei マイコバクテリウム・フレイ	3158	抗酸性菌	C	3.13	6.25	6.25	6.25	6.25	3.13
8 Trichophyton mentagrophytes トリコフィトン・メンタグロフィアス	5810	カビ病原菌	B	1.56	1.56	1.56	6.25	6.25	6.25
9 Trichophyton rubrum トリコフィトン・ルブルム	5467	"	B	1.56	1.56	1.56	6.25	6.25	6.25
10 Alternaria mali オルタナリア・マリ	8984	リンゴ炭疽菌	C	12.5	50	50	12.5	12.5	12.5
11 Glomerella lagenarium グロメレラ・ラグナリウム	7513	ナス腐敗病原菌	C	6.25	6.25	6.25	12.5	12.5	12.5
12 Pyricularia oryzae ピリカルリア・オリザ	5994	イネいもち病原菌	C	12.5	50	50	6.25	12.5	12.5
13 Botryotinia fuckeliana ボトリオチニア・フッケリアナ	5365	葡萄灰色カビ病的	C	12.5	50	50	1.56	12.5	12.5
14 Candida albicans カンジダ・アルビカンス	1594	カンジダ菌	B	0.78	1.56	1.56	0.78	0.78	0.78

増殖地 A: ブレン・ハート・インフュージョン寒天 B: サブロー寒天 C: ポテト・グルコース寒天

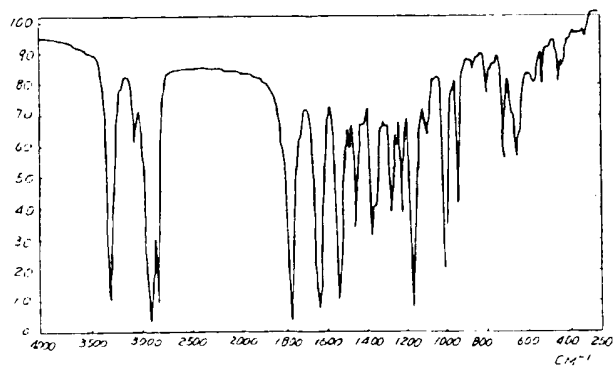
測定 1~7, 14: 懸濁液 2.4 時間後, 8~13: 接種 1 週間後

## 4 図面の簡単な説明

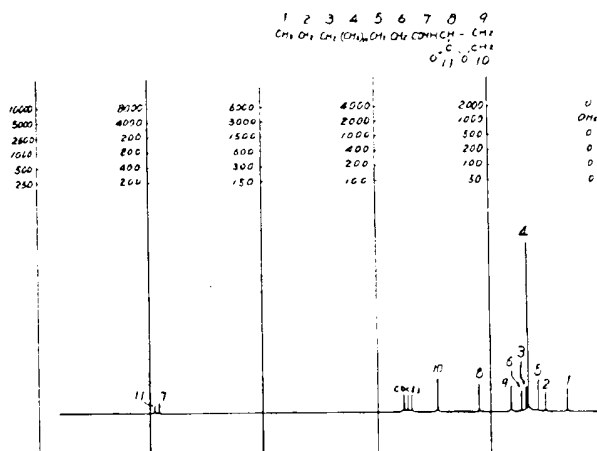
第 1 図ならびに第 2 図および第 3 図は、それぞれ本発明のホモセリンラクトン誘導体の代表例である N-hexadodecanoyl-homoserinelactone の赤外線吸収スペクトルならびに核磁気共鳴スペクトルである。

特許出願人 三菱瓦斯化学株式会社  
代表者 長 野 和 吉

第1図



第2図



第3図

